

11. Aspectos farmacológicos del citocromo P-450

ÁNGEL M.^a VILLAR DEL FRESNO, PALOMA BERMEJO BESCÓS Y
SAGRARIO MARTÍN-ARAGÓN ÁLVAREZ

RESUMEN

La familia de las monooxigenasas de función mixta del citocromo P-450 constituye el principal catalizador de las reacciones de biotransformación de medicamentos (oxidación y reducción) y ejerce su actividad en un grupo de sustratos químicamente muy heterogéneo. La mayor parte de los tejidos de mamíferos, sobre todo hígado e intestino delgado, poseen uno o más de estos citocromos localizados principalmente en el retículo endoplásmico y en la mitocondria.

Las enzimas del citocromo P-450 están en estrecha relación con una segunda proteína de membrana, la NADPH-citocromo P-450 reductasa, que constituye la fuente de uno o dos electrones necesarios para la reacción multifásica de oxidación.

El sistema del citocromo P-450 hepático comprende una gran familia de enzimas relacionadas que difieren en la secuencia de aminoácidos. Las familias 1, 2 y 3 (CYP1, CYP2 y CYP3) intervienen en la mayor parte de las biotransformaciones de fármacos, si bien las demás familias son importantes en el metabolismo de compuestos endógenos, esteroides y ácidos grasos.

Entre las biotransformaciones oxidativas que catalizan las monooxigenasas del citocromo P-450 se incluyen: oxidación alifática, hidroxilación aromática, N-desalquilación, O-desalquilación, S-desalquilación, epoxidación, desaminación oxidativa, formación de sulfóxido, desulfuración, N-oxidación y N-hidroxilación, y deshalogenación.

En la regulación de las reacciones del citocromo P-450 de biotransformación de fármacos intervienen diversos factores, entre los más importantes destacan: la variabilidad genética en cuanto a la capacidad de cada persona para metabolizar un fármaco, el empleo concomitante de otros fármacos, la exposición a contaminantes ambientales y sustancias químicas industriales, las enfermedades, y la edad.

La mayor síntesis *de novo* del citocromo P-450 se produce por el contacto con algunos fármacos y contaminantes ambientales. La inducción enzimática provoca un aumento de la tasa de biotransformación y una disminución de la disponibilidad o actividad del fármaco original, por el contrario, la inhibición de las enzimas de biotransformación ocasiona mayores niveles de fármaco original, prolongación de los efectos intrínsecos y una mayor incidencia de intoxicación medicamentosa.

La función hepática deficiente puede culminar en alteraciones en la biotransformación de fármacos, el grado de disminución de la actividad monooxigenasa del citocromo P-450 y de la eliminación por el hígado es proporcional a la gravedad del daño hepático existente. La capacidad metabólica global del hígado disminuye con la edad, debido a la reducción de su masa, de la actividad enzimática, y del riego sanguíneo. Las restricciones en la biotransformación hepática propias de la senilidad deben guardar relación con el sistema del citocromo P-450, en tanto que otras vías metabólicas no se alteran en grado extraordinario por la edad.

Las interacciones medicamentosas originadas en el metabolismo dependen en gran medida del sistema del citocromo P-450. Los medicamentos que se metabolizan por un mismo enzima interactúan de forma competitiva, disminuyendo la velocidad de metabolización del fármaco menos afín. Si la vía afectada constituye el mecanismo principal de eliminación del medicamento, las concentraciones plasmáticas del fármaco original pueden aumentar, y así prolongarse o intensificarse sus efectos intrínsecos.

1. CONCEPTOS GENERALES DE LA BIOTRANSFORMACIÓN DE FÁRMACOS

Las reacciones involucradas en el proceso de metabolización de fármacos son múltiples y diversas. En general, se clasifican en dos grupos, reacciones de funcionalización (Fase I) y reacciones de conjugación (Fase II).

Las reacciones de fase I consisten en reacciones de oxidación y reducción que alteran o crean nuevos grupos funcionales, así como reacciones de hidrólisis de enlaces ésteres y amidas liberando así nuevos grupos funcionales. Estos cambios, generalmente incrementan la polaridad de la molécula. Las biotransformaciones oxidativas catalizadas por las enzimas microsomales hepáticas son las reacciones enzimáticas más importantes implicadas en la fase I del metabolismo de fármacos.

Las reacciones de conjugación de fase II convierten los metabolitos intermediarios procedentes de la fase I en productos finales que son fácilmente eliminados por el organismo. El fármaco o metabolito procedente de la fase I se acopla a un sustrato endógeno (ácido glucurónico, ácido acético o ácido sulfúrico) aumentando así el tamaño de la molécula. Estos conjugados, fuertemente polares, suelen ser inactivos y se excretan con rapidez por la orina y las heces.

2. NATURALEZA DEL SISTEMA MONOOXIGENASA DEL CITOCROMO P-450

La familia de monooxigenasas de función mixta, denominadas citocromo P-450, constituye el principal sistema enzimático de las reacciones de biotransformación de medicamentos. Este término engloba a un grupo de hemoproteínas que, al combinarse en su estado reducido (ferroso) con el monóxido de carbono, forma un complejo de color rosa con picos de absorbancia máxima de aproximadamente 450 nm (447-452 nm).

El sistema del citocromo P-450 (CYP) hepático comprende una gran familia de enzimas relacionadas (aunque distintas en cuanto a la secuencia de aminoácidos) en la regulación mediante inhibidores e inductores y en la especificidad de las reacciones que catalizan.

En seres humanos se han identificado 12 familias del gen del citocromo P-450, y es frecuente que en una sola célula existan diversas enzimas de esta índole. Casi todos los tejidos de mamíferos, especialmente hígado e intestino delgado, poseen uno o más de estos citocromos que se localizan principalmente en el retículo endoplásmico y en la mitocondria.

Esta ‘superfamilia’ de enzimas cataliza reacciones muy diversas de oxidación y reducción, y posee actividad en un grupo de sustratos quí-

micamente muy heterogéneo. Aunque algunas de las formas del citocromo P-450 son específicas de un determinado sustrato, la mayoría de ellas y en particular las del retículo endoplásmico, catalizan un gran número de reacciones metabólicas a la vez. Asimismo, un mismo sustrato puede ser metabolizado por más de una de estas formas (Wester et col., 2003).

Como resultado de la especificidad relativamente pequeña por el sustrato, dos o más enzimas individuales suelen catalizar una reacción de biotransformación particular. Así, por ejemplo, en el metabolismo del 17 β -estradiol participan muchas isoformas del CYP humano con diferente grado de actividad catalítica y selectividad regional (Lee, 2003a).

3. CLASIFICACIÓN DE LAS ENZIMAS DEL CITOCROMO P-450

La clasificación corriente de la familia de multigenes del citocromo P-450 se basa en la similitud de “secuencias” de proteínas individuales. Los miembros de una familia génica particular tienen una identidad que incluye más del 40% de los aminoácidos. Una familia particular del citocromo P-450 suele subdividirse a su vez en subfamilias de tal forma que la analogía en la secuencia de aminoácidos es superior al 55%. Se nombran con el prefijo CYP, seguido del número que designa a la familia, una letra mayúscula que indica la subfamilia, y un número que representa a la forma individual. En el hombre se han descrito 17 familias, 30 subfamilias y alrededor de 50 genes individuales.

Atendiendo al modo en que se liberan los electrones en el sitio catalítico procedente del NADPH, los citocromos se dividen en cuatro clases:

- Clase I: como donadores de electrones requieren tanto de NADPH reductasa como de la redoxina hierro-azufre.
- Clase II: necesitan únicamente P-450 reductasa y FAD/FMN para la transferencia de electrones.
- Clase III: no precisan de ningún donador de electrones.
- Clase IV: reciben los electrones directamente del NADPH.

Las familias génicas 1, 2 y 3 del citocromo P-450 (CYP1, CYP2 y CYP3) codifican las enzimas que intervienen en la mayor parte de las

biotransformaciones de fármacos, si bien las demás familias son importantes en el metabolismo de compuestos endógenos, esteroides y ácidos grasos.

CYP1B1 es el principal enzima del metabolismo de estrógenos carcinogénicos y está involucrado en la activación metabólica de pro-carcinógenos de hidrocarburos aromáticos policíclicos (Chun, 2003).

CYP2A6 constituye alrededor del 5-10% del total CYP hepático microsomal en el hombre. Aunque la cumarina es su principal sustrato, muchos tóxicos y pro-carcinógenos también lo son, como el metilterbutiléter, la nicotina, la N-nitrosobenzilmetilamina, y la N-nitrosodietilamina (Le Gal et col. 2003).

CYP2B6 lleva a cabo el metabolismo de compuestos como la nicotina, el bupropión, y muchas toxinas y carcinógenos. Su expresión en cerebro es específica de determinadas regiones y se localiza tanto en neuronas como en astrocitos. Los niveles de CYP2B6 en cerebro se encuentran elevados en fumadores y alcohólicos, lo que puede alterar la sensibilidad a fármacos que actúan a nivel central, incrementar la susceptibilidad a toxinas y carcinógenos, y contribuir a la tolerancia central de la nicotina (Miksys et col. 2003).

CYP3A contribuye sustancialmente al metabolismo de aproximadamente el 50% de los fármacos comercializados actualmente y que sufren metabolismo oxidativo (Gibbs et col., 2003). Este citocromo P-450 es el más abundante en el hígado humano y su expresión en el tracto gastrointestinal es elevada. Por ello, un factor importante que contribuye a la baja biodisponibilidad de muchos fármacos administrados oralmente es el extenso metabolismo que tiene lugar en las vías gastrointestinales debido al CYP3A4.

El estudio del intestino delgado está suscitando últimamente un gran interés en el aspecto que se refiere al metabolismo de fármacos ya que el conocimiento que se posee acerca de la intervariabilidad y regulación del CYP intestinal es pobre en comparación con el CYP hepático. Existe una elevada variabilidad interindividual en CYP1A2, CYP2A6 y CYP2E1 en duodeno humano que puede conducir a una biodisponibilidad variable de los fármacos utilizados oralmente y complicar así la terapia farmacológica óptima, especialmente en el caso de fármacos que poseen una estrecha ventana terapéutica (Lindell et col., 2003).

CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 y CYP3A4 son la principales isoformas del metabolismo de fármacos y contribuyen al metabolismo oxidativo de más del 90% de los fármacos de uso clínico actual (Alvares & Prat, 1990).

4. MECANISMO DE OXIDACIÓN DE FÁRMACOS A TRAVÉS DEL CITOCROMO P-450

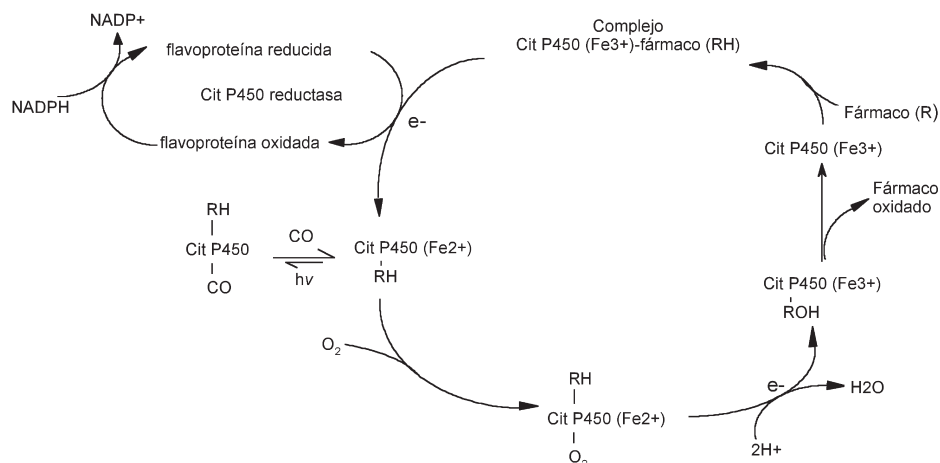
Las reacciones oxidativas catalizadas por el sistema monooxigenasa microsomal P-450 (Lewis, 2003) requieren la integridad de un flujo de electrones que es canalizado por la NADPH-citocromo P-450 reductasa desde el NADPH hasta el complejo formado por el citocromo P-450 y el fármaco (sustrato).

La reacción de oxidación multifásica transcurre como sigue: el sustrato (fármaco o xenobiótico) reacciona con la forma oxidada del citocromo P-450 (Fe^{3+}) para formar un complejo enzima-sustrato; la reductasa acepta un electrón del NADPH que a su vez reduce al complejo oxidado del citocromo P-450-sustrato; el complejo citocromo P-450-sustrato reducido (Fe^{2+}) reacciona con el oxígeno molecular y con un segundo electrón del NADPH donado a través de la reductasa para formar oxígeno activado; en las fases finales se libera un átomo de oxígeno en forma de agua, y otro se transfiere al sustrato; una vez liberado el sustrato sometido a oxidación, el enzima oxidado (citocromo P-450) se regenera (Alvares & Prat, 1990).

El requerimiento del nucleótido de piridina reducido y del oxígeno molecular define a este sistema enzimático como una oxidasa de función mixta (también llamada monooxigenasa). Se consume una molécula de oxígeno por cada molécula de sustrato oxidado; se introduce un átomo de oxígeno en el sustrato y el otro es reducido para formar agua. El conjunto de la reacción se puede formular como a continuación se indica, donde A es la forma oxidada y AH_2 es la forma reducida del citocromo P-450.

1. $\text{NADPH} + \text{A} + \text{H}^+ \rightarrow \text{AH}_2 + \text{NADP}^+$
 2. $\text{AH}_2 + \text{O}_2 \rightarrow \text{“complejo de oxígeno activado”}$
 3. $\text{“Complejo de oxígeno activado”} + \text{sustrato} \rightarrow \text{sustrato oxidado} + \text{A} + \text{H}_2\text{O}$
-
- $$\text{NADPH} + \text{O}_2 + \text{sustrato} + \text{H}^+ \rightarrow \text{NADP}^+ + \text{sustrato oxidado} + \text{H}_2\text{O}$$

La ruta del flujo electrónico se esquematiza a continuación:



La flavoproteína NADPH-citocromo P-450 reductasa oxida al NADPH formando NADPH^+ y conduciendo con la transferencia de un electrón, a través de la flavoproteína, a la forma oxidada del citocromo P-450, el cual ya ha interactuado con el sustrato (fármaco o xenobiótico). Se ha comprobado *in vitro* que la flavoproteína es capaz de transferir electrones al citocromo c u otros aceptores electrónicos (azul de metileno, menadión) si se añaden a la reacción (*in vitro*). Tales aceptores electrónicos, por tanto, inhiben las oxidaciones del sustrato mientras el NADPH permanece inalterado, es decir, no sufre oxidación (Alvares & Prat, 1990).

La solubilización, separación y purificación parcial de la NADPH-citocromo P-450 reductasa y del citocromo P-450 (Lu & Coon, 1968) permitió por primera vez la reconstitución del sistema monooxigenasa del citocromo P-450. El requerimiento de la NADPH-citocromo P-450 reductasa en la reconstitución de las actividades de hidroxilación máxima para varios sustratos demostró el papel de esta flavoproteína en las reacciones mediadas por el citocromo P-450. El otro componente necesario para la actividad en sistemas reconstituidos es la fosfatidilcolina. Este fosfolípido no está directamente involucrado en la transferencia electrónica pero parece que tiene una función en el acoplamiento de la reductasa y el citocromo P-450, y en la unión del sustrato al citocromo. El sistema reconstituido del citocromo P-450 ha sido utilizado para demostrar que

la especificidad del sustrato de las monooxigenasas hepáticas está determinada primariamente por el citocromo P-450. Aunque algunos estudios han demostrado que el metabolismo de algunos sustratos puede estar incrementado por la presencia del citocromo b₅, el citocromo P-450 es el factor más importante en la determinación de la especificidad del sustrato (Alvares & Prat, 1990).

En contraste a lo que ocurre en el hígado, en el sistema monooxigenasa de la glándula adrenal los electrones son transferidos desde la flavoproteína (NADPH-adrenodoxin reductasa) al citocromo P-450 a través de una proteína llamada adrenodoxina. El sistema monooxigenasa adrenal, localizado en la mitocondria, metaboliza exclusivamente sustratos endógenos, como la 11-desoxicorticosterona y el colesterol. La NADPH-adrenodoxin reductasa aislada de mitocondria adrenal bovina ha demostrado ser inmunológicamente distinta de la NADPH-citocromo P-450 reductasa microsomal.

Se han purificado múltiples isoenzimas del citocromo P-450 a partir de hígado animal y humano. Cada una de las isoenzimas del citocromo P-450 de microsomas hepáticos de rata tiene sus propias características, pero con frecuencia se solapa la especificidad del sustrato por el metabolismo de diferentes xenobióticos.

El Oxicitocromo P-450, O₂.P-450(Fe²⁺).RH, puede disociarse para dar un anión superóxido, concomitantemente con la regeneración de la hemo-proteína férrica P-450 (Fe³⁺).RH. Se piensa que el oxígeno molecular es tóxico para los tejidos debido a su capacidad para generar radicales libres.

El oxígeno molecular sufre una reducción (1 e-) en los sistemas biológicos, dando lugar a la formación de radical superóxido. Esta reacción puede transcurrir no enzimáticamente o puede estar catalizada por numerosas enzimas como la NADPH-citocromo P-450 reductasa, xantino oxidasa, y varias enzimas mitocondriales. Una vez formado el superóxido, éste puede producir ulteriores productos de reducción llamados oxirradicales. El radical superóxido puede dañar las células y tejidos mamíferos bien directa (inactivando enzimas) o indirectamente mediante la estimulación de la peroxidación lipídica. La reducción secuencial (4e-) del oxígeno molecular puede describirse así:



El superóxido, el peróxido de hidrógeno, y especialmente el radical hidroxilo son individual y colectivamente especies tóxicas para las células y tejidos. Normalmente los tejidos tienen mecanismos de defensa contra los efectos tóxicos de los oxirradicales. Entre ellos destacan la superóxido dismutasa, la catalasa, y las glutathione peroxidasas. Sin embargo, cuando estas defensas se encuentran disminuidas estos oxirradicales se pueden acumular en los tejidos alcanzando niveles tóxicos.

La asociación del sustrato al citocromo P-450 oxidado se puede determinar espectrofotométricamente. Para algunos compuestos, esta asociación da lugar a un espectro tipo I con un valle alrededor de los 420 nm y un pico a 385 nm, o un tipo II con un valle a 394 nm y un pico alrededor de los 430 nm. Los ligandos tipo I se unen a un lugar hidrofóbico de la proteína en una proximidad cercana al hierro hemo, mientras que los ligandos tipo II interactúan directamente con el hierro hemo. Algunos fármacos, como el hexobarbital y la etilmorfina, originan un espectro tipo I, y otros, como la anilina y la acetanilida, dan lugar a un espectro tipo II. En algunos casos, la tasa de metabolismo es proporcional a la unión del sustrato al citocromo P-450 microsomal. Sin embargo, no es una regla general que la constante de disociación espectral y la constante de Michaelis (K_m) para la oxidación del sustrato sean similares.

Aunque el hígado es el principal lugar de las oxidaciones mediadas por el citocromo P-450, tales biotransformaciones pueden también tener lugar en tejidos extrahepáticos. Los lugares del metabolismo extrahepático de fármacos son frecuentemente las puertas de entrada o excreción de xenobióticos (por ej., pulmón, riñón, piel y mucosa intestinal). Aunque el metabolismo extrahepático no sea esencial en todas las fases de la disposición del fármaco, el metabolismo en estos tejidos puede jugar un papel importante en la determinación de la toxicidad del órgano diana. En tejidos extrahepáticos la toxicidad puede estar mediada por la molécula original o por un metabolito químicamente reactivo que es generado bien directamente en el órgano diana o en el hígado seguido por el transporte del metabolito tóxico al órgano diana. En un mismo tejido pueden existir muchas diferencias en la distribución celular o subcelular de las monooxigenasas. En la corteza adrenal las fracciones mitocondriales catalizan la ruptura alifática, y la 11β -hidroxilación y 18-hidroxilación del colesterol, mientras que las fracciones microsomales son responsables de la 17α -hidroxilación y 21-hidroxilación de hormonas esteroides.

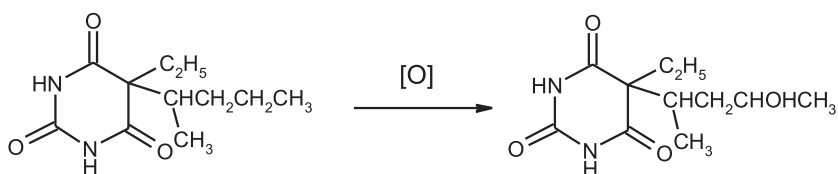
5. BIOTRANSFORMACIONES OXIDATIVAS CATALIZADAS POR EL CITOCROMO P-450

Ahora examinaremos ejemplos típicos de biotransformaciones oxidativas catalizadas por las monooxigenasas del citocromo P-450: oxidación alifática, hidroxilación aromática, N-desalquilación, O-desalquilación, S-desalquilación, epoxidación, desaminación oxidativa, formación de sulfóxido, desulfuración, N-oxidación, N-hidroxilación, y deshalogenación.

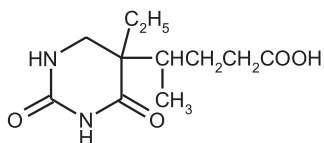
También tienen lugar reacciones catalíticas reductoras por acción de las enzimas del citocromo P-450, por lo común en un medio con una tensión baja de oxígeno. La única característica estructural común al grupo heterogéneo de xenobióticos oxidados por enzimas del citocromo P-450 es su gran liposolubilidad.

Oxidación alifática

Los principales metabolitos del PENTOBARBITAL en perros y humanos son derivados alcohólicos formados mediante oxidación alifática:



Los ácidos carboxílicos pueden también producirse como metabolitos minoritarios:

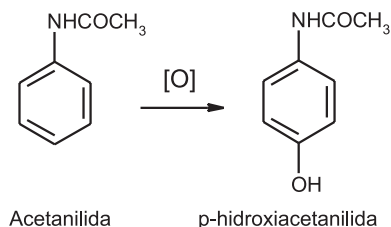


En las oxidaciones alifáticas, los productos del sistema microsomal son alcoholes. La posterior oxidación a aldehídos y ácidos carboxílicos requiere las enzimas solubles alcohol deshidrogenasa y aldehído deshidrogenasa.

Entre los fármacos que sufren oxidación alifática destacan: tolbutamida, ibuprofeno, meprobamato, ciclosporina, midazolam.

Hidroxilación aromática

La conversión de ACETANILIDA a p-hidroxiacetanilida es un ejemplo clásico ilustrativo de hidroxilación en el anillo aromático:



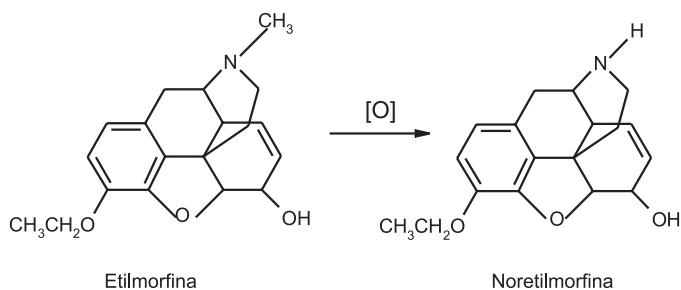
La reacción tienen lugar a través de la formación de un intermediario epóxido. La reacción catalizada por el citocromo P-450 forma el epóxido que espontáneamente (no enzimáticamente) da lugar al correspondiente hidróxido aromático. Las HORMONAS ESTEROIDES, como la testosterona y el 17 β -estradiol, son también hidroxiladas por un sistema microsomal hepático que requiere NADPH, probablemente el mismo sistema que oxida los fármacos.

Fármacos que sufren hidroxilación aromática: fenilhidantoína, fenobarbital, propranolol, fenilbutazona, etinilestradiol, anfetamina, warfarina.

N-desalquilación

Grupos N-metilo, N-etilo, y N-alquilo, en general, pueden ser eliminados oxidativamente y convertidos a aldehídos (formaldehído, acetaldehído, etc.). El paso oxidativo inicial forma un hidroxialquilo que espontáneamente se rompe para formar el correspondiente compuesto noralquilo y un aldehído. Las reacciones son claramente diferentes de las transferencias usuales (carbono sencillo) en el metabolismo intermediario, que implica bien S-adenosilmetionina o un derivado del ácido fólico.

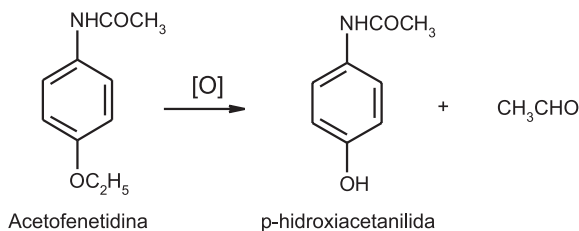
La conversión de ETILMORFINA a noretilmorfina ilustra esta reacción:



Fármacos que sufren N-desalquilación: imipramina, diazepam, codeína, eritromicina, tamoxifeno, teofilina, cafeína.

O-desalquilación

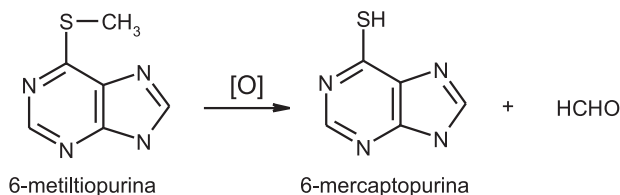
Los éteres aromáticos son fragmentados como se muestra en la siguiente reacción:



Fármacos que sufren O-desalquilación: codeína, indometacina, dextrometorfán.

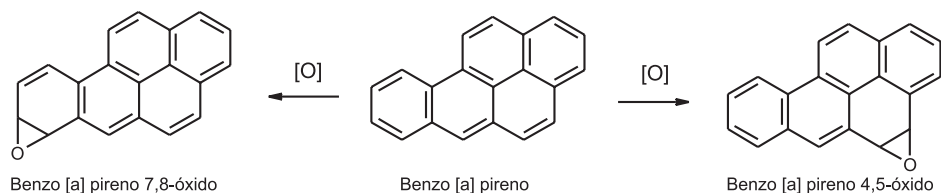
S-desmetilación

Ciertos metiltioéteres sufren una reacción oxidativa similar a la N- u O-desmetilación:



Epoxidación

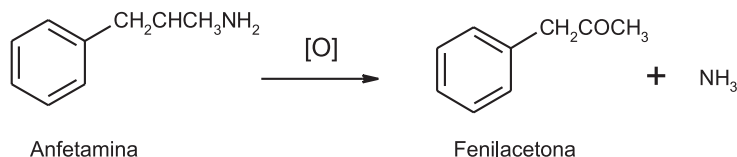
Muchos compuestos aromáticos u olefínicos son metabolizados a óxidos de areno o alqueno. El carcinógeno policíclico benzo(a)pireno es metabolizado a varios epóxidos. A continuación se muestra el metabolismo del hidrocarburo en los dobles enlaces 4,5 (región K) y 7,8 (región no K):



Los óxidos de areno pueden ser hidratados enzimáticamente por la epóxido hidrolasa microsomal, o pueden sufrir isomerización no enzimática a fenoles, ser conjugados con glutatión, y también reaccionar con DNA, RNA y proteínas formando enlaces covalentes.

Desaminación oxidativa

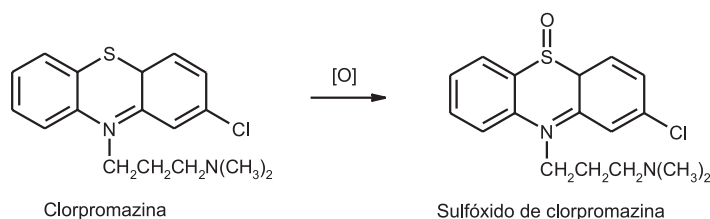
El metabolismo de la ANFETAMINA a fenil-acetona por el hígado de conejo es un ejemplo de desaminación oxidativa:



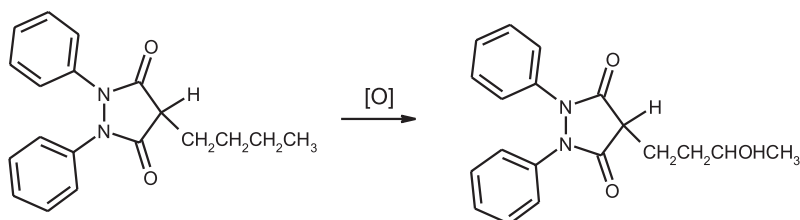
En perro y rata, sin embargo, la anfetamina experimenta p-hidroxilación del anillo de benceno en vez de desaminación. El diazepam es otro ejemplo de desaminación oxidativa.

Formación de sulfóxidos

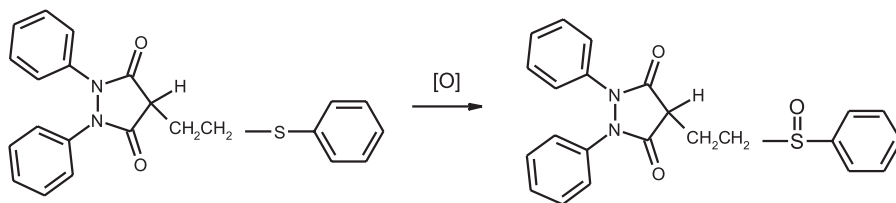
Los TIOÉTERES, en general, son oxidados a sulfóxidos como se muestra a continuación:



Otro ejemplo de formación de sulfóxido fue descubierto en el curso de una búsqueda de agentes antigotosos. La FENILBUTAZONA, fármaco con actividad antirreumática, antipirética, analgésica y acumuladora de sodio, también bloquea la reabsorción tubular de ácido úrico. Se vio que un metabolito alcohólico, generado mediante oxidación alifática de la fenilbutazona, tenía poco efecto antirreumático pero que conservaba cierta acción uricosúrica:



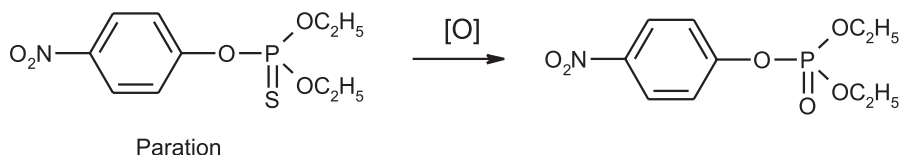
Las manipulaciones de la cadena alifática del alcohol fenilbutazona condujeron al descubrimiento de que los derivados que contienen azufre tienen una marcada acción uricosúrica. Entre ellos, el 4-feniltioetilo, análogo de fenilbutazona, se metaboliza mediante la formación de sulfóxido para producir un fármaco uricosúrico más potente, la sulfinpirazona:



La sulfinpirazona llegó a la terapéutica como fármaco selectivamente uricosúrico, prácticamente carente de actividades antirreumática, analgésica y acumuladora de sodio. También se utiliza como fármaco antiagregante.

Desulfuración

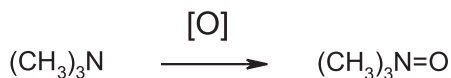
Un ejemplo de desulfuración es la conversión del PARATIÓN a su análogo oxigenado, paraoxón. El paratión, que se utiliza como insecticida, es biológicamente inerte ya que su efectividad depende de la desulfuración oxidativa en el insecto y su toxicidad en mamíferos depende de la desulfuración oxidativa en el hígado:



En esta reacción, la especificidad del nucleótido de piridina aún no se conoce. En general se ha aceptado que el NADPH es el cofactor preferido, sin embargo, varios autores han afirmado que el NADH puede ser igual o más eficiente que el NADPH en la desulfuración de insecticidas de tionato.

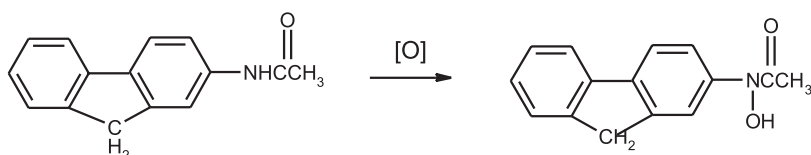
N-oxidación y N-hidroxilación

La N-oxidación es ejemplificada mediante la conversión oxidativa de la TRIMETILAMINA a su N-óxido:



Las aminas secundarias y terciarias son oxidadas por las enzimas microsomales que requieren NADPH y oxígeno molecular, pero parece evidente la existencia de una amino oxidasa especial (una flavoproteína distinta de la NADPH-citocromo c reductasa), responsable de estas oxidaciones. La amino oxidasa es una oxidasa de función mixta, y el citocromo P-450 parece que no está implicado. Aminas secundarias son convertidas a hidroxilaminas, y aminas terciarias a óxidos de amina. Sufren N-oxidación los siguientes fármacos: clorfeniramina, dapsona, meperidina, quinidina, acetaminofeno.

Cuando el compuesto carcinogénico 2-acetilaminofluoreno es administrado a ratas u otras especies animales en las que éste produce cáncer, se forma un metabolito N-hidroxi:

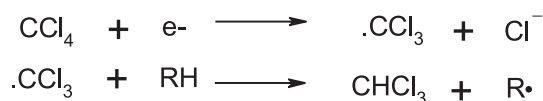


Ni el N-hidroxi-2-acetilaminofluoreno, ni el compuesto primario, son carcinógenos finales. Un éster sulfato del metabolito N-hidroxi es un intermediario en la formación de un carcinógeno final, esta formación éster es catalizada por una sulfotransferasa citoplásmica. El 2-acetilaminofluoreno no es un carcinógeno hepático en el cobayo, especie con una actividad sulfotransferasa muy baja.

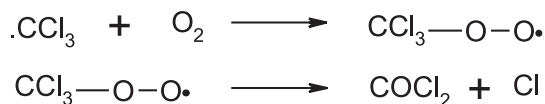
Deshalogenación

Ciertos insecticidas halogenados, anestésicos, y otros compuestos pueden experimentar deshalogenación en el organismo animal. Los hidrocarburos alifáticos halogenados poseen propiedades farmacológicas, como es el caso de los anestésicos. El hombre puede también estar expuesto a hidrocarburos alifáticos halogenados a través de la contaminación ambiental, y algunos de estos compuestos, como el tetracloruro de carbono, son tóxicos muy importantes.

En la deshalogenación del tetracloruro de carbono a cloroformo se ha demostrado que está implicado el sistema monooxigenasa citocromo P-450. El tetracloruro de carbono experimenta una reducción ($1e^-$) catalizada por el citocromo P-450 para rendir un radical triclorometil. En el retículo endoplásmico, el radical triclorometil puede captar un átomo de hidrógeno procedente de la membrana lipídica para producir cloroformo e iniciar la peroxidación lipídica:



Alternativamente, el radical triclorometilo puede reaccionar con el oxígeno molecular para formar un radical triclorometil-peroxilo ($\text{CCl}_3\text{-O-O}\cdot$) que se puede convertir en fosgeno:



El radical $\text{CCl}_3\text{—O—O}\cdot$ puede también iniciar la peroxidación lipídica. Estos hallazgos, acerca de la formación de cloroformo procedente del tetracloruro de carbono y su inhibición por el cloruro de cobalto, así como el hecho de que la administración de fenobarbital incrementa marcadamente la toxicidad aguda del tetracloruro de carbono, sugieren claramente que el citocromo P-450 es el lugar de su bioactivación.

Los anestésicos halogenados, como el halotano, fluroxeno, y metoxiflurano son metabolizados de forma significativa en el hombre y en animales de experimentación. Generalmente, la unión carbono-flúor es más estable que la unión carbono-cloro. Sin embargo, se han encontrado cantidades sustanciales del ion flúor libre tanto en el hombre como en animales de experimentación después de la administración de metoxiflurano, por lo que dicho ion se ha relacionado con casos de toxicidad renal.

6. FACTORES QUE MODIFICAN LA BIOTRANSFORMACIÓN DE LOS FÁRMACOS

En la regulación de las reacciones de biotransformación de fármacos intervienen factores genéticos, ambientales y fisiológicos. Entre los más importantes destacan: los polimorfismos genéticos en cuanto a la capacidad de cada persona para metabolizar un fármaco, el empleo concomitante de otros fármacos, la exposición a contaminantes ambientales y sustancias químicas industriales, las enfermedades, y la edad. Al parecer, estos factores son los que explican la menor eficacia, la mayor duración de los efectos farmacológicos y la intensificación de la toxicidad de los fármacos.

6.1. Inducción del citocromo P-450

La mayor síntesis *de novo* de proteína del citocromo P-450 se produce tras la exposición duradera a un agente inductor (algunos fármacos y contaminantes ambientales) que incrementa la transcripción génica. La

inducción, por tanto, es más el resultado de un aumento en la síntesis de enzimas microsomales que un cambio en la actividad del enzima existente por un efecto alostérico. La inducción del enzima provoca un aumento de la tasa de biotransformación y una disminución, por tanto, de la disponibilidad o actividad del fármaco original. Como consecuencia, puede aumentar o disminuir la toxicidad farmacológica.

Los inductores, por lo común, muestran especificidad por una familia particular del citocromo P-450, a pesar de que dentro de ella, sustancias con estructuras químicas diferentes pueden tener efectos similares.

En el caso de compuestos que se metabolizan hasta una especie reactiva, la inducción puede generar mayor toxicidad. Por ejemplo, la exposición a hidrocarburos aromáticos policíclicos de contaminantes industriales, humo de cigarrillos y carnes asadas al carbón, induce la actividad de la familia CYP1A en el hígado de forma extraordinaria, y también extrahepáticamente (Wittayalertrpanya, 2003). El efecto carcinógeno de algunos hidrocarburos policíclicos se asocia a un aumento de la formación hepática de productos oxidantes altamente reactivos que pueden dañar el DNA. Este tipo de inductores se fija a un receptor arilcarburo (AhR) citosólico, y el complejo formado es transportado por un traslocador nuclear (Arnt) hasta el núcleo donde actúa como factor de transcripción para regular en dirección ascendente la expresión de CYP1A. Además, estos inductores del citocromo P-450 aumentan de manera simultánea la expresión de enzimas que intervienen en biotransformaciones de la fase II como las glucuronosiltransferasas y las transferasas del glutatión.

La inducción del citocromo P-450, debido al consumo crónico de alcohol, aumenta la toxicidad farmacológica del paracetamol cuyos metabolitos de fase I son los principales causantes de su toxicidad. Por ello, el efecto hepatotóxico del paracetamol es mayor en alcohólicos ya que en ellos tiene lugar una mayor síntesis de un metabolito reactivo, N-acetil-*p*-benzoquinoneimida, mediado por el CYP2E1.

En ocasiones, un fármaco particular induce el metabolismo de otros, y también el propio. Un ejemplo ampliamente estudiado de la llamada autoinducción lo constituye el anticonvulsivante carbamazepina.

En terapéutica, la inducción metabólica adquiere su máxima importancia cuando se interrumpe la administración del agente inductor y se

conserva la misma dosis del fármaco que se estaba utilizando. En este caso, la disminución progresiva del efecto inductor provocará un aumento de las concentraciones plasmáticas y posiblemente de los efectos adversos del segundo fármaco, salvo que se reduzca la dosis.

Los inductores prototipo de otras enzimas del citocromo P-450 incluyen los glucocorticoides y anticonvulsivantes (CYP3A4), isoniazida y acetona (CYP2E1).

6.2. Inhibición del citocromo P-450

La inhibición de las enzimas de biotransformación ocasiona mayores niveles de fármaco original, prolongación de los efectos intrínsecos y una mayor incidencia de intoxicación medicamentosa. La competencia entre dos o más fármacos por la unión al sitio activo de la misma enzima puede disminuir el metabolismo de uno de ellos, en base a las concentraciones relativas de cada sustrato y sus afinidades por la enzima.

Los inhibidores del citocromo P-450 difieren en su selectividad hacia las diferentes isoformas de la enzima y se clasifican según sus mecanismos de acción:

- *Inhibición competitiva.* Algunos fármacos compiten por el lugar activo, pero no son sustratos por sí mismos. Por ejemplo, la glibenclamida ejerce una potente inhibición del CYP2C9 y débil inhibición del CYP3A4. Inhibe fuertemente el metabolismo de la S-warfarina y de la fenitoína (catalizadas ambas por el CYP2C9) de forma competitiva, respectivamente, así como la 1-hidroxilación del imidazolam catalizada por el CYP3A4 (Kim, 2003).
- *Inhibición no competitiva reversible.* Este mecanismo requiere la oxidación de los inhibidores por medio de una enzima P-450. El ketoconazol inhibe el metabolismo oxidativo al formar un complejo con el hierro (Fe^{3+}) del grupo hemo del CYP3A4, produciendo una inhibición reversible. El ketoconazol incrementa la biodisponibilidad del tacrolimus (inhibidor de calcineurina) mediante la inhibición del CYP3A4 y la P-glicoproteína. Esta propiedad se aprovecha para administrar una menor cantidad de fármaco obteniendo el mismo efecto. Y así, por ejemplo, la coadministración de tacrolimus y ke-

toconazol a pacientes con trasplante renal lo que da lugar a una sustancial disminución de la dosis y consecuente reducción del coste sin que se detecten efectos adversos metabólicos con esta combinación (Soltero 2003). En el caso de antibióticos macrólidos, como la eritromicina y la troleandomicina, la especie que se liga al grupo hemo es un metabolito de dichos compuestos.

- *Inactivación “suicida”*. Los inactivadores “suicidas” de las enzimas del citocromo P-450 forman un enlace covalente con la enzima que posteriormente se destruye. Entre estos inactivadores se encuentran el secobarbital y esteroides sintéticos (noretindrona, etinilestradiol).

CYP1A1 y CYP1B1 catalizan el metabolismo oxidativo del 17- β -estradiol a estrógenos catecólicos y quinónicos que provocan daño en el DNA. La catecol-O-metiltransferasa cataliza la metilación de los estrógenos catecólicos a metoxiestrógenos que disminuyen el potencial de daño al DNA debido al efecto *feedback* inhibitorio que ejercen sobre CYP1A1 y CYP1B1 (Dawling et col., 2003).

La metabolización del paclitaxel a 6 α -hidroxipaclitaxel por el CYP2C8 es inhibida por algunos compuestos fenólicos (fisetina, quercetina, morina, resveratrol), incrementándose las concentraciones plasmáticas de paclitaxel durante la quimioterapia (Vaclavikova, 2003).

El CYP1B1 juega un importante papel en el metabolismo de fármacos antitumorales. Se ha visto que el CYP1B1 se expresa en una alta frecuencia en varios cánceres humanos pero no en tejidos normales. Estos hallazgos sugieren que la inhibición del CYP1B1 mediante compuestos naturales y sintéticos podría ser una nueva estrategia terapéutica oncológica (Chun et col, 2003).

6.3. Enfermedades

La función hepática deficiente de sujetos con hepatitis, hepatopatía alcohólica, hígado graso, cirrosis biliar o hepatocarcinomas, puede culminar en alteraciones en la biotransformación de fármacos por dicha víscera. El grado de disminución de la actividad monooxigenasa del citocromo P-450 y la consiguiente eliminación es proporcional a la gravedad del daño hepático.

En individuos con disfunción hepática, la disminución de la biotransformación de tolbutamida, diazepam y morfina se ha relacionado con una intensificación de la respuesta farmacológica. El voriconazol, antifúngico azólico, se elimina vía hepática en un 80% por medio de las isoenzimas CYP2C19, CYP3A4 y CYP2C9, y por ello es recomendable ajustar la dosis en pacientes con disfunción hepática (Jeu, 2003).

La disminución del flujo de sangre en el hígado, característica de la insuficiencia cardíaca o del bloqueo β -adrenérgico, también disminuye la rapidez de biotransformación hepática.

Por otro lado, se ha demostrado que respuestas inflamatorias en el cerebro causan un descenso significativo de los niveles y actividades de importantes isoformas del citocromo P-450 en hígado (CYP1A, CYP2B, CYP3A) (García del Busto Cano, 2003).

El osteosarcoma, tumor de hueso primario pediátrico más común, se caracteriza por su agresividad con tendencia a una temprana metástasis pulmonar. El CYP3A4/5 está implicado en la activación y detoxificación metabólica de numerosos carcinógenos y quimioterápicos, incluidos muchos fármacos que se utilizan en el tratamiento del osteosarcoma. La expresión de CYP3A4/5 se ha visto que es significativamente más elevada en biopsias primarias de pacientes que desarrollan metástasis en comparación con las de pacientes que no la desarrollan. Así, la expresión elevada de CYP3A4/5 puede predecir la metástasis y mal pronóstico en los osteosarcomas. El uso de CYP3A4/5 como biomarcador de la respuesta terapéutica puede tener implicaciones en el tratamiento de estos tumores (Dhaini, 2003).

6.4. Edad

Las enzimas funcionales del citocromo P-450 son detectables en una fase relativamente temprana del desarrollo fetal, si bien los índices del metabolismo oxidativo en esta etapa son menores que los que se observan después del nacimiento. No se ha definido con exactitud la importancia de las enzimas individuales del citocromo P-450 en las reacciones de biotransformación fetales. Sin embargo, la presencia de una peculiar proteína CYP3A7 del citocromo P-450 refuerza la participación de la familia de CYP3A en las biotransformaciones que se expresan exclusiva-

mente en el feto. Los neonatos tienen la capacidad de catalizar de manera eficaz casi todas las reacciones de biotransformación de fase I, si bien lo hacen con mayor lentitud que los adultos.

La capacidad metabólica global del hígado es menor en el anciano debido a la disminución de su masa, actividad enzimática y riego sanguíneo. Es importante que las disminuciones propias de la senilidad en la biotransformación hepática guarden relación con el sistema monooxigenasa del citocromo P-450, en tanto que otras vías metabólicas, al parecer, no se alteran en grado extraordinario por la edad. Las enzimas farmacometabolizantes de fase I son afectadas en mayor grado que las que catalizan las reacciones de fase II. Sin embargo, los cambios suelen ser pequeños, en comparación con otras causas de variabilidad interindividual del metabolismo. En el caso de fármacos que poseen un intenso efecto de primer paso, incluso una disminución pequeña en la capacidad metabolizante, puede conllevar un incremento en la biodisponibilidad después de ingeridos. El uso de fármacos en el anciano, requiere una administración moderada de la dosis, teniendo en cuenta la posibilidad de una reactividad farmacodinámica demasiado intensa.

7. INTERACCIONES METABÓLICAS DE LOS FÁRMACOS

La administración simultánea de dos o más medicamentos suele ocasionar cambios en la eliminación de uno de ellos. Aunque las interacciones medicamentosas pueden alterar procesos como la absorción, la unión a proteínas y la excreción por orina, el efecto en la biotransformación es, en términos generales, el más intenso. Las interacciones medicamentosas originadas en el metabolismo dependen en gran medida del metabolismo de fase I, por intervención del sistema del citocromo P-450. Los medicamentos que se metabolizan por un mismo enzima interactúan de forma competitiva por unirse a un sitio en ella, lo que enlentece el metabolismo del fármaco menos afín. Si la vía afectada constituye el mecanismo principal de eliminación del medicamento, pueden aumentar las concentraciones plasmáticas del fármaco original, y así prolongarse o intensificarse sus efectos intrínsecos. En muchos casos, la inhibición competitiva del metabolismo en cierta vía se ve compensada por un incremento en la biotransformación por vías alternas.

Los antibióticos macrólidos y los antimicóticos de tipo azólico inhiben la eliminación de diversos fármacos mediante la competencia en su meta-

bolización por el CYP3A4 (Sagir, 2003). La inhibición del metabolismo de warfarina, carbamazepina, ciclosporina y midazolam por parte de la eritromicina, se ha relacionado con niveles tóxicos del fármaco original.

La inhibición de la biotransformación de fenilhidantoína por parte del dicumarol frecuentemente se manifiesta por ataxia y somnolencia. Conforme se amplían los conocimientos acerca de las distintas enzimas del citocromo P-450 encargadas de vías metabólicas específicas, es posible evaluar la probabilidad de efectos adversos que derivan del uso de múltiples fármacos.

Las interacciones intermedicamentosas también surgen cuando un fármaco induce el metabolismo de otro. En este caso la eliminación del medicamento aumentará y disminuirá el efecto farmacológico. Se reconoce a los barbitúricos como inductores del metabolismo de diversos fármacos, como clorpromazina, doxorrubicina, estradiol y fenilhidantoína. La rifampicina es un inductor potente de CYP3A4 de intestino e hígado, y ha ocasionado incrementos notables en la eliminación de corticosteroides, ciclosporina, anticonceptivos orales, quinidina, diazepam, warfarina y digoxina. En muchos casos, hay que aumentar la dosis del fármaco “disminuido” durante la administración de rifampicina, con el fin de conservar sus efectos terapéuticos.

Muchos psicótrópos son sustratos e inhibidores a la vez de isoenzimas del CYP, mientras muchos antiepilépticos son sustratos e inductores del CYP. Pueden tener potenciales interacciones cuando estos agentes se administran concomitantemente (Lee et col., 2003b).

Las interacciones entre antiepilépticos y quimioterápicos son frecuentes ya que en muchos casos es necesaria la administración conjunta de ambos. Así, los antiepilépticos inductores del CYP (carbamazepina, fenitoína, fenobarbital y primidona) reducen los efectos de taxanos, alcaloides de la vinca, metotrexato, tenipósido y análogos de campotecina (Vecht, 2003). La inhibición del metabolismo de las nitrosoureas o del etopósido por el ácido valproico puede conducir a la toxicidad de aquellos quimioterápicos. Algunos de los nuevos antiepilépticos (gabapentina, lamotrigina, levetiracetam, tiagabina, topiramato, vigabatrina y zonisamida) no se metabolizan por el sistema CYP y pueden constituir una buena alternativa (Patsalos, 2003).

Las interacciones de medicamentos con bloqueantes de receptores de angiotensina (losartán e ibersartán) se deben a la elevada afinidad que poseen estos antihipertensivos por las isoenzimas del CYP. Sin embargo,

otros como candesartán, cilexetilo, valsartán y eprosartán, tienen una variable pero generalmente modesta afinidad, mientras que telmisartán no posee ninguna (Unger, 2003).

La clozapina se metaboliza principalmente por el isoenzima CYP1A2, que puede ser inducido por omeprazol, conocido inhibidor de la bomba de protones; por ello se deben monitorizar los niveles plasmáticos de clozapina (Frick et col, 2003).

BIBLIOGRAFÍA

- Alvares, A.P. & Prat, W.B. Principles of Drug Action. Eds: William. B. Prat & Palmer Taylor. Editorial Churchill Livingstone. Tercera edición. New York, 1990.
- Chun, Y.J. & Kim, S. (2003) Discovery of cytochrome P-450 1B1 inhibitors as new promising anti-cancer agents. *Med Res Rev* **23**(6), 657-668.
- Dawling, S., Roodi, N. & Parl, F.F. (2003) Methoxyestrogens exert feedback inhibition on cytochrome P-450 1A1 and 1B1. *Cancer Res* **63**(12), 3127-3132.
- Dhaini, H.R., Thomas, D.G., Giordano, T.J., Johnson, T.D., Biermann, J.S., Leu, K., Hollenberg, P.F. & Baker, L.H. (2003) Cytochrome P-450 CYP3A4/5 expression as a biomarker of outcome in osteosarcoma. *J Clin Oncol* **21**(13), 2481-2485.
- Frick, A., Kopitz, J. & Bergemann, N. (2003) Omeprazole reduces clozapine plasma concentrations. A case report. *Pharmacopsychiatry* **36**(3), 121-123.
- García del Busto Cano, E. & Renton, K.W. (2003) Modulation of hepatic cytochrome P-450 during *Listeria monocytogenes* infection of the brain. *J Pharm Sci* **92**(9), 1860-1868.
- Gibbs, M. & Hosea, N. (2003) Factors Affecting the Clinical Development of Cytochrome P-450 3A Substrates. *Clin Pharmacokinet* **42**(11), 969-984.
- Jeu, L., Piacenti, F.J., Lyakhovetskiy, A.G. & Fung HB. (2003) Voriconazole. *Clin Ther* **25**(5), 1321-1381.
- Kim, K.A. & Park, J.Y. (2003) Inhibitory effect of glyburide on human cytochrome P-450 isoforms in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* **31**(9), 1090-1092.
- Le Gal, A., Dreano, Y., Lucas, D. & Berthou, F. (2003) Diversity of selective environmental substrates for human cytochrome P-450 2A6: alkoxyethers, nicotine, coumarin, N-nitrosodiethylamine, and N-nitrosobenzylmethylamine. *Toxicol Lett* **144**(1), 77-91.
- Lee, A.J., Cai, M.X., Thomas, P.E., Conney, A.H. & Zhu, B.T. (2003a). Characterization of the oxidative metabolites of 17 β -estradiol and estrone formed by 15 selectively expressed human cytochrome P-450 isoforms. *Endocrinology* **144**(8), 3382-3398.

- Lee, K.C., Finley, P.R. & Alldredge, B.K. (2003b) Risk of seizures associated with psychotropic medications: emphasis on new drugs and new findings. *Expert Opin Drug Saf* **2**(3), 233-247.
- Lewis, D.F. (2003) P-450 structures and oxidative metabolism of xenobiotics. *Pharmacogenomics* **4**(4), 387-395.
- Lindell, M., Karlsson, M.O., Lennernas, H., Palhman, L. & Lang, M.A. (2003) Variable expression of CYP and Pgp genes in the human small intestine. *Eur J Clin Invest* **33**(6), 493-499.
- Lu, A.Y. & Coon, M.J. (1968) Role of hemoprotein P-450 in fatty acid omega-hydroxylation in a soluble enzyme system from liver microsomes. *J Biol Chem* **243**(6), 1331-1332.
- Miksys, S., Lerman, C., Shields, P.G., Mash, D.C. & Tyndale, R.F. (2003) Smoking, alcoholism and genetic polymorphisms alter CYP2B6 levels in human brain. *Neuropharmacology* **45**(1), 122-132.
- Patsalos, P.N. & Perucca, E. (2003) Clinically important drug interactions in epilepsy: general features and interactions between antiepileptic drugs. *Lancet Neurol* **2**(6), 347-356.
- Sagir, A., Schmitt, M., Dilger, K. & Haussinger, D. (2003) Inhibition of Cytochrome P-450 3A: Relevant Drug Interactions in Gastroenterology. *Digestion* **68**(1), 41-48.
- Soltero, L., Carvajal, H., Rodriguez-Montalvo, C. & Valdes, A. (2003) Coadministration of tacrolimus and ketoconazole in renal transplant recipients: cost analysis and review of metabolic effects. *Transplant Proc* **35**(4), 1319-1321.
- Unger, T. & Kaschina, E. (2003). Drug interactions with angiotensin receptor blockers: a comparison with other antihypertensives. *Drug Saf* **26**(10), 707-720.
- Vaclavikova, R., Horsky, S., Simek, P. & Gut, I. (2003) Paclitaxel metabolism in rat and human liver microsomes is inhibited by phenolic antioxidants. *Naunyn Schmiedeberts Arch Pharmacol* **368**(3), 200-209.
- Vecht, C.J., Wagner, G.L. & Wilms, E.B. (2003) Interactions between antiepileptic and chemotherapeutic drugs. *Lancet Neurol* **2**(7):404-409.
- Wester, M.R., Johnson, E.F., Marques-Soares, C., Dijols, S., Dansette, P.M., Mansuy, D. & Stout, C.D. (2003) Structure of Mammalian Cytochrome P-450 2C5 Complexed with Diclofenac at 2.1 Å Resolution: Evidence for an Induced Fit Model of Substrate Binding. *Biochemistry* **42**(31), 9335-9345.
- Wittayalertpanya, S., Hinsui, Y. & Lawanprasert, S. (2003) Paraxanthine/caffeine ratio: as an index for CYP1A2 activity in polycyclic aromatic hydrocarbons exposed subjects. *J Med Assoc Thai* **86** Suppl 2, S310-S317.

ÁNGEL M.^a VILLAR DEL FRESNO, PALOMA BERMEJO BESCÓS Y SAGRARIO MARTÍN-ARAGÓN

Goodman & Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Editores: Hardman J.G.; Limbird L.E. Editorial Mc Graw Hill Interamericana Editores S.A. Décima edición. México, 2003.

Florez, J. Farmacología Humana. Editores: Flórez J., Armijo J.A., Mediavilla A. Editorial Masson, S.A. Cuarta edición. Barcelona, 2003.

Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter J.M. Farmacología. Editorial Harcourt. cuarta edición. Madrid, 2000.